

A doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Differenciál-polarizációs lézerpásztázó mikroszkóp fejlesztése és felhasználása  
anizotróp biológiai szerkezetek feltárásában**

**Steinbach Gábor**

Témavezető:

**Prof. Dr. Garab Győző**

Tudományos tanácsadó

Szegedi Tudományegyetem

Biológiai Doktori Iskola

Magyar Tudományos Akadémia

Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Növénybiológiai Intézet

2012

Szeged

## Bevezetés

Biológiai minták között általános a hierarchikusan rendezett, komplex molekuláris szerkezetek előfordulása: például cellulózsálak, összetapadt membránrégiók, párhuzamosan futó makromolekula-láncok, önszerveződő aggregátumok formájában. Az ilyen struktúrák esetében a minta és a polarizált fény kölcsönhatását felhasználva más módszerekkel nem kinyerhető információt kaphatunk a minta anizotróp molekuláris szerkezetéről.

A Szegedi Biológiai Kutatóközpontban konfokális lézerpásztázó mikroszkópra kidolgozott differenciál-polarizációs mérési technika (DP-LSM) egyesíti a fénymikroszkópos minta-előkészítés egyszerűségét, a konfokális fluoreszcens leképezés minőségét és a dikrográfok által biztosított szerkezeti információk elérhetőségét. A polarizációs mennyiségek ilyen módon való feltérképezése egy mikroszkopikus skálán működő dikrográfot valósít meg (bár a spektrális mérési lehetőségeket nélkülözni kénytelen, illetve meghatározott hullámhosszakra korlátozott, ugyanakkor a fluoreszcencia polarizáció-tartalmának vizsgálatával a dikrográfok lehetőségeit meghaladja).

Doktori kutatómunkám fő célja volt bemutatni a DP-LSM hatékonyságát különféle biológiai rendszerek rendezett szerkezetének feltárásában, valamint továbbfejleszteni az eljárást és alkalmazhatóságát szélesebb körben kiterjeszteni. A mikroszkópos munkámnak előzménye az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) petesejtet a dajkasejtekkel összekötő gyűrűcsatornáinak vizsgálata volt, ahol a DP-LSM hatékony kiegészítő technikának bizonyult a knock-out mutánsokban az aktin-alapú O-gyűrű anizotróp szerkezetének feltárásában, és ezáltal hozzájárult a vizsgált enzimek funkciójának azonosításához [Gorjanác és mtsai, 2006].

Nem csak a szűkebb értelemben vett szerkezetvizsgálati módszerek kerülnek szóba a DP-LSM-mel kapcsolatban. Meg kell említeni az olyan alkalmazásokat is, amelyekben a differenciál-polarizációs méréstechnika a molekulák mikrokörnyezetének vizsgálatában jelentett fontos kutatási előrelépést: sikerült például humán limfociták sejtmembránjában kialakuló lipidraftokat azonosítani a fluoreszcens jelölők polarizációfok-változásának mikroszkópos leképezésével [Gombos és mtsai, 2008].

A mikroszkópos munkába való bekapcsolódásom révén egy régóta zajló növénybiológiai kutatómunkában is részt vállalhattam. A fotoszintetikus membránok 3D topológiájának kérdései erősen megosztották-megosztják a téma kutatóit. Mustárdy és munkatársai elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján a sztrómamembránok és a gránum összekapcsolódásának helikális modelljét állították fel [Mustárdy és Garab, 2003]. Más kutatócsoportok ezzel szemben alternatív térbeli szerkezetet javasoltak [Shimoni és mtsai, 2005]. A nagyfelbontású elektronmikroszkópos tomográfiához [Mustárdy és mtsai, 2008] DP-LSM-en folytatott vizsgálatok is kapcsolódtak: a rendezett fotoszintetikus membránrendszerek DP-LSM-mel feltérképezhető [Steinbach és mtsai, 2005], és az elektronmikroszkópos vizsgálatokkal összhangban álló [Dekker és Boekema, 2005] erős kettőtörő tulajdonsága nagy jelentőséggel bír a mikromanipulációs technikák számára [Garab és mtsai, 2005a].

A doktori kutatómunkám során többféle fejlesztéssel és alkalmazással összefüggő témával foglalkoztam. A dolgozat fejezetei a megvalósítás időrendjét követik: először a növényi sejtfalon (*Convallaria majalis*) és a humán amiloid-filamentumokon végzett vizsgálatok során nyert, valamint a mesterséges porfirin-molekulák önszerveződő képességével kapcsolatos eredményeimet ismertetem. Ezekhez a kutatásokhoz a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Zeiss LSM410-es mikroszkópjára épített DP-LSM-et használtam. A megjelent publikációknak, konferenciákon bemutatott közleményeknek köszönhetően nőtt meg a bizalom és az érdeklődés a DP-LSM iránt, így kerülhetett sor az ELTE Immunológiai Tanszékén lévő Olympus FV500-as mikroszkóp DP-egységgel való felszerelésére, és ezzel párhuzamosan a szegedi DP-LSM-en elvégzett nagyfrekvenciás fejlesztésre. Eredményeim lezárásaként ezt a két munkafolyamatot mutatom be.

Doktori értekezésemben az eddig megjelent munkáimra, publikációimra támaszkodtam: Steinbach és mtsai, 2008; Steinbach és mtsai, 2009; Steinbach, 2011a; Steinbach és mtsai, 2011b; Chappaz-Gillot és mtsai, 2012. A technikai fejlesztésekkel kapcsolatban tudományos folyóiratban közlemény még nem jelent meg. A nagyfrekvenciás mérőrendszer modulátora jelenleg szabadalmaztatási eljárás alatt áll. [Bognár és mtsai, 2012].

# Célkitűzés

Doktori kutatómunkám fő célja a differenciál-polarizációs lézerpásztázó mikroszkóp (DP-LSM) alkalmazhatóságának vizsgálata. Munkámhoz tartozott a korábban összeállított DP-LSM technikai továbbfejlesztése és a DP-technika adaptálása új generációs konfokális mikroszkópokra, ezáltal szélesebb körben elérhetővé tenni ezt a technika.

## I. Biológiai alkalmazások:

1. lineáris dikroizmus mérések fluoreszcensen jelölt növényi sejtfalakon, a cellulózzsálak rendezettségének leképezése
2. amiloid-filamentumok szupramolekuláris szerkezetének feltérképezése differenciál-polarizációs módszerekkel és az 3D-s modellek alkotása
3. Zn-ketol porfirin molekulák önszerveződő tulajdonságainak nyomon követése, aggregátumaik szerkezetének megismerése mesterséges fénybegyűjtő antennarendszerek (mesterséges kloroszómák) kialakítása számára

## II. Technikai fejlesztések:

1. korrekciók meghatározása a DP leképezés számára a dikroikus tükrökön elvégzett Mueller-mátrix mérésekkel
2. a DP-kiegészítő berendezés adaptálása új generációs konfokális mikroszkópra (a konfokális mikroszkóp és a DP-kiegészítő elemek hardveres és szoftveres összekapcsolása, tesztelése)
3. nagyfrekvenciás DP-LSM prototípus (HRF DP-LSM készülék) építése

## **Anyagok és módszerek**

### **Gyöngyvirágsejtfal-minták**

A mikroszkópos minta gyöngyvirág növényből (*Convallaria majalis*) származott. A 15  $\mu\text{m}$  vastag gyökérmetszetet acridine orange festéssel, Eukitt beágyazással készítették el [Schaffer és Bauch, 2004]. A metszetet a Carl Zeiss Jena GmbH (Jena, Germany) forgalmazta mikroszkópos tesztmintaként. A Johannes Lieder GmbH & Co. KG Laboratorium termékeke.

### **Amiloid-filamentumok**

A humán amiloidszálakat a preparálást követően kongó vörös fluoreszcens festék 0,1%-os friss vizes oldatában festették meg 10 percig, amit 30 perces kimosási fázis, majd a minták gumiarábikum-oldatos lefedése követett [Romhányi, 1958; Romhányi, 1979]. A mérésre előkészített mintákat Makovitzky József (Department of Neuropathology, University of Heidelberg, Heidelberg, Németország) volt szíves rendelkezésemre bocsátani.

### **Zn-porfirin molekulák**

Az önszerveződésre képes bakterio-klorofill (BChl) molekulák kloroszómákat építve igen hatékony energiatovábbító antennarendszereket képesek létrehozni. Ezt a természetes példát követve merült fel az igény a mesterségesen szintetizált, a BChl-hoz hasonló, de azoknál tartósabb porfirinmolekulák előállítására. A távoli cél olcsó, nem mérgező, a környezetet nem szennyező hibrid napelemek létrehozása biomimetikus alapokon.

A méréseimhez felhasznált cink-ketol porfirinmolekulák preparálását Silviu Balaban és kutatócsoportja dolgozta ki [Balaban és mtsai, 2009], és Anita Župčanová (Biological Centre, Academy of Sciences of the Czech Republic, České Budejovice, Csehország) közreműködésével juthattam hozzá a mintákhoz, amelyeken a DP-LSM-mel történő vizsgálatokat elvégeztem.

### **Mueller-mátrix mérések**

A polarimetriai vizsgálatokat a Szegedi Tudományegyetem Optikai és Kvantumelektronikai Tanszékén végeztem el, Wollam M-2000F ellipszométer használatával.

## Konfokális mikroszkópia

A biológiai minták mérése során használt Zeiss LSM410-es konfokális mikroszkóp alapja egy Zeiss Axiovert 135 típusú fluoreszcens mikroszkóp, ehhez kapcsolódik a háromcsatornás pásztázó egység, beépített 543 nm-es és 633 nm-es HeNe lézerekkel és külső (488 és 514 nm-es gerjesztést biztosító) Ar-ion lézerrel. Ezen a mikroszkópon került sor a nagyfrekvenciás modulációval kapcsolatos munka elvégzésére is.

Az új generációs konfokális mikroszkópcsaládhoz épített DP-kiegészítőegységet az ELTE Immunológiai Tanszékén lévő Olympus FV500-as mikroszkóphoz kapcsoltam hozzá. Ez a mikroszkóp 3+1 csatornás pásztázó egységgel rendelkezik. Optikai szállal becsatolt 543 nm-es és 633 nm-es HeNe lézerekkel és többvonalas Ar-ion lézerrel gerjeszthetők a minták.

## Modulációs mérés technika

A nagysebességű differenciál-polarizációs mérések alapja a fotoelasztikus modulátor (Photo Elastic Modulator: PEM). A PEM-ben található amorf kvarc mechanikai feszültség hatására kettőstörő tulajdonságot mutat. Segítségével fázistolást lehet létrehozni az áthaladó nyalábnak az eszköz ordinárius és extraordinárius tengelyeivel párhuzamos polarizációs komponensein. Ezt a változtatható fázistolást használjuk ki a mérés során igényelt polarizációs állapotok nagysebességű periodikus előállítására.

Háromféle fotoelasztikus modulátort használtam: HINDS Instruments PEM-90-es egységet a szegedi DP-LSM mérésekre, HINDS Instruments, PEM-100-as egységet építettem be az Olympus FV500-as mikroszkópba, és az Envitech Kft-től származó egyedi építésű modulátort alkalmaztam a nagyfrekvenciás prototípusban a megfelelő polarizációs állapotok előállítására.

Az ortogonális polarizációs állapotokhoz tartozó intenzitásértékek különbségének meghatározásához a KFKI-ban fejlesztett (Pawel Kamasa, Wiegner FK, Budapest) ISA buszos fázisérzékeny detektorkártyát, illetve a SIGNAL Recovery 7280 típusú lock-in erősítőt használtam.

## Zeiss LSM410 alapú DP-LSM

A Szegedi Biológiai Kutatóközpontban kifejlesztett differenciál-polarizációs lézerpásztázó mikroszkóp mind a gerjesztő, mind az emissziós fényútban lehetővé teszi a fény polarizációs állapotának modulálását a képfelvétel folyamán, ezáltal a gyakran használt differenciál-polarizációs mennyiségek meghatározhatók, feltérképezhetők [Pomozi, 2002; Garab és mtsai, 2005b; Garab és mtsai, 2007]:

	Lézersugár-moduláció	Fluoreszcencia-analízis
Lineáris polarizáció	Lineáris dikroizmus (LD) Fluoreszcencia-detektált lineáris dikroizmus (FDLD) Lineáris kettőstörés (LB)	Polarizációfok (P) Anizotróp fluoreszcencia (r)
Cirkuláris polarizáció	Cirkuláris dikroizmus (CD) Fluoreszcencia-detektált cirkuláris dikroizmus (FDCD)	Cirkulárisan polarizált lumineszcencia (CPL)

## Az eredmények összefoglalása

Biológiai mintákban megtalálható molekulárisan rendezett szerkezetek vizsgálata számos kutatási területen kiemelt feladat. A dikrográfokban alkalmazott differenciál-polarizációs mérés technika a rendezett molekulászerkezetek megismerésének széles körben elterjedt módja (pl. fehérjék és fotoszintetikus komplexek CD spektruma, makroszkóposan rendezett membránok, komplexek, szuperkomplexek LD spektruma). A dikrográf azonban a minta teljes térfogatára átlagolva határozza meg a szerkezeti paramétereket. Inhomogén minták esetében – mint amilyen a sejt- és szövetpreparátumok nagy többsége – jelentős információ-többletet eredményez a makroszkopikus vizsgálat mikroszkópos leképezéssel való helyettesítése; számos esetben az anizotróp sajátságok csak mikroszkópos technikával tárhatók fel.

A Ph.D. kutatómunkám fő eredményei – a DP-leképezésekkel összefüggő biológiai alkalmazások és a DP-LSM technika továbbfejlesztése – az alábbiakban foglalhatók össze:

**1. tézis.** A konfokális mikroszkóp fluoreszcens mérési módjai bizonyos esetekben megnehezítik a differenciál-polarizációs mérések kvantitatív kiértékelését: a mikroszkópban alkalmazott dielektrikum-vékonyréteg (dikroikus) tükrök kölcsönhatásba lépnek a poláros fénnel, és módosítják annak polarizációs állapotát. A kapott DP-eredmények megbízhatóságának biztosításához elvégeztem a mikroszkóp polarizációállapot-módosításra alkalmas dikroikus tükreinek részletes polarimetriai vizsgálatát, és az eredményeim alapján korrigáltam a mért nyers DP-mennyiségeket a polarizációmódosító hatást figyelembe véve.

**A pontos korrekción alapuló adatfeldolgozás lehetővé teszi a valós idejű kvantitatív vizsgálatok elvégzését a DP-LSM-en.**

**2. tézis.** Növényi sejtfalon, acridine orange fluoreszcens festékkel jelölt cellulózsálak vizsgálatával bemutattam a konfokális differenciál-polarizációs leképezés (FDLD) és a transzmissziós módban végrehajtható LD-mérések közötti minőségi különbséget. Az optikai szelektálás felhasználása kiküszöböli az egymás felett elhelyezkedő rétegek zavaró hatását, jelentősen javítja a felvett kép minőségét.

**A DP-LSM technika alkalmas a sejtfal-szerkezetek térbeli kvantitatív vizsgálatára.**

**3. tézis.** Az idegtudományok intenzíven kutatott területe az amiloid-filamentumokból képződött plakkok kialakulásának vizsgálata és jellemzése. Az amiloid-filamentumok, melyek magas szinten rendezett oldhatatlan fehérje-aggregátumok, számos neurodegeneratív betegséggel állnak kapcsolatban. Kongó vörössel festett, humán mintából izolált amiloidsálak anizotróp szerkezetét vizsgáltam, FDLD-leképezés segítségével. A DP mérések felismerhetővé tették az anizotróp szerkezeti sajátságokat és a fluoreszcens képen homogén területen is jelen lévő periodikus mintázatot.

**Az amiloid-filamentumok fluoreszcensen homogén területein a polarizációs mintázat  $1,6 \pm 0,1 \mu\text{m}$  hullámhosszú periodikus változást mutat, ami az elemi szálak ismert, kis léptékű helikális struktúrájának ismételt, mikronos skálán megjelenő szuperhelikális (supercoiled) kialakulását jelzi.**



**4. tézis.** Bár a Földet érő napenergia mennyisége tízezerszeresen felülmúlja a jelenlegi igényeinket, hatalmas területen oszlik el. A természetben kifejlődött fotoszintetikus antennarendszerek példáját követve hasznos lenne önszerveződő molekulákból fénybegyűjtő hálózatot kiépíteni a napelem-technológia hatékonyságának növelésére. A Silviu Balaban és kutatócsoportja által kidolgozott eljárás biomimetikus Zn-ketol porfirin előállítására ígéretes jelöltje a technológiának. A DP-LSM-mel elvégzett vizsgálataim jelentős mértékben hozzájárultak a Zn-ketol porfirinmolekulákból álló nanorodok rendezett belső szerkezetének feltárásához és mágneses térben való manipulálásuk lehetőségeinek megismeréséhez. Mikroszkópos méréseim további spektroszkópai technikákkal kiegészítve lehetővé tették a tranzíciós vektorok orientációjának meghatározását és a térbeli szerkezeti modell kialakítását.

**Zn-ketol porfirinmolekulák önszerveződő módon homogén szerkezetű anizotróp nanorodokat alkotnak, amelyek külső mágneses térben rendezhetők. A térbeli modellalkotás pontos adatai DP-mérésekből származnak.**

**5. tézis.** A DP-LSM-mel történő mérés hatékonyan alkalmazható szerkezetvizsgálatra, akár élő sejttes környezetben is. Ez teremtette meg az igényt a DP-technika új generációs konfokális mikroszkópokra való adaptálására. A kompakt, modern kivitel több technikai problémát is felvet, ezek miatt szükséges a Zeiss LSM410-es berendezésen alkalmazott sémát módosítani és használhatóvá tenni más gyártók mikroszkóptípusaihoz való csatlakoztatásra is. Az Olympus FV500-as konfokális mikroszkópon megvalósítottam a DP-kiegészítő kapcsolódását és az egységek elektronikai összehangolását.

**A DP-LSM technika az új generációs mikroszkópokra is adaptálható; lényegében nem módosítva a mikroszkóp belső szerkezetét, hozzákapcsolható az eredeti berendezéshez. A konfokális mikroszkópok DP-kiegészítővel felszerelve alkalmassá válnak további anizotrópiás szerkezeti tulajdonságok mérésére.**

**6. tézis.** A differenciál-polarizációs mérések megvalósításának meghatározó eleme a fotoelasztikus modulátor. A képfelvételi idő csökkentését elsősorban az korlátozza, hogy a pásztázás során az egy pixelen eltöltött idő alatt elegendő számú modulációs ciklusnak kell végbemennie a megfelelő átlagolás eléréséhez. A modulációs frekvencia növelése a DP-LSM rendszerekben nem volt elérhető a piacon beszerezhető eszközökkel, az Envitech Kft-től származó, velük együtt fejlesztett fotoelasztikus modulátor-egységgel elérhetőnek tűnt a mérési idő lecsökkentése. Elvégeztem a mikroszkóphoz kapcsolódás megtervezését, kivitelezését, majd a teljes rendszer tesztelését. A kész prototípus megépítéséhez hozzátartozott, hogy a felhasználói felület programját is elkészítsem.

**A megépített prototípus 400 kHz-es (optikai) modulációjának köszönhetően a DP-képfelvétel ideje az eredeti 100 kHz-es berendezéshez képest 25%-ra csökkenthető, ami jelentősen javítja az eljárás sorozatmérésekre, optikai szeletelésre, élő sejteken folytatott vizsgálatokra való alkalmasságát.**

*A dolgozatomban demonstráltam a DP-leképezés hatékonyságát többféle biológiai rendszeren, valamint eredményeket értem el mind a meglévő DP-LSM alkalmazhatóságát, mind a más mikroszkópokra való átépítését illetően. Az elvégzett méréseim és a végrehajtott fejlesztéseim hozzájárulhatnak ennek a biológiai és anyagtudományi szerkezetvizsgálati kutatásokban használható módszernek a szélesebb körben való megismertetéséhez és alkalmazhatóságához.*

## Irodalomjegyzék

- Balaban** T. S., Bhise A. D., Bringmann G., Bürck J., Chappaz-Gillot C., Eichhöfer A., Fenske D., Götz D. C. G., Knauer M., Mizoguchi T., Mössinger D., Rösner H., Roussel C., Schraut M., Tamiaki H., Vanthuyne N. (2009) Mimics of the self-assembling chlorosomal bacteriochlorophylls: regio- and stereoselective synthesis and stereoanalysis of acyl(1-hydroxyalkyl)porphyrins. *J Am Chem Soc* 131:14480–14492.
- Bognár** K., Czitrovsky A., Illyés Á., Nagy A., Garab Gy., Steinbach G. (2012\*) Magas frekvenciás fotoelasztikus fénymodulátor. \*Benyújtott szabadalom.
- Chappaz-Gillot** C, Marek P. L., Blaive B. J., Canard G., Bürck J., Garab G., Hahn H., Jávorfí T., Kelemen L., Krupke R., Mössinger D., Ormos P., Malla Reddy C., Roussel C., Steinbach G., Szabó M., Ulrich A. S., Vanthuyne N., Vijayaraghavan A., Zupcanova A., Balaban T. S. (2012) Anisotropic organization and microscopic manipulation of self-assembling synthetic porphyrin microrods that mimic chlorosomes: bacterial light-harvesting systems. *J Am Chem Soc* 134:944-954.
- Dekker** J. P., Boekema E. J. (2005). Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants. *Biochim Biophys Acta* 1706: 12–39.
- Garab** G., Galajda P., Pomozi I., Finzi L., Praznovszky T., Ormos P., van Amerongen H. (2005a) Alignment of biological microparticles by a polarized laser beam. *Eur Biophys J* 34:335-43.
- Garab** G., Pomozi I., Jörgens R., Weiss G. (2005b) Method and apparatus for determining the polarization properties of light emitted, reflected or transmitted by a material using a laser scanning microscope. US Patent 6,856,391.
- Garab** G., Pomozi I., Jörgens R., Weiss G. (2007) Method and apparatus for determining the polarization properties of light emitted, reflected or transmitted by a material using a laser scanning microscope. EP 1 334 339 (01 996 722.3) Patent
- Gombos** I., Steinbach G., Pomozi I., Balogh A., Vámosi G., Gansen A., László G., Garab G., Matkó J. (2008) Some new faces of membrane microdomains: a complex confocal fluorescence, differential polarization and FCS imaging study on live immune cells *Cytometry Part A* 73A:220–229.
- Gorjanacz** M., Török I., Pomozi I., Garab G., Szlanka T., Kiss I., Mechler B.M. (2006) Domains of importin- $\alpha$ 2 required for ring canal assembly during *Drosophila* oogenesis. *J Struct Biol* 154:27–41.
- Mustárdy** L., Garab G. (2003) Granum revisited. A three-dimensional model – where things fall into place. *Trends Plant Sci* 8:117–122.

- Mustárdy L., Buttle K., Steinbach G., Garab G. (2008)** The three-dimensional network of the thylakoid membranes in plants: quasihelical model of the granum-stroma assembly. *Plant Cell* 20:2552–2557.
- Pomozi I. (2002):** Polarizációs mintázatok nagy és kis látószögű képalkotó polarimetriai mérése légköri optikai és biológiai vonatkozásokkal. PhD értekezés, ELTE-TTK
- Romhányi G. (1958),** Submicroscopic structure of elastic fibres as observed in the polarization microscope, *Nature* 182: 929-930.
- Romhányi G. (1979)** Selective demonstration of amyloid deposits and methodical possibilities of analysis of their ultrastructural differences / Selektive Darstellung sowie methodologische Möglichkeiten der Analyse ultrastruktureller Unterschiede von Amyloidablagerungen. *Zentralbl Allg Pathol* 123:9–16.
- Schaffer J, Bauch H. (2004)** Test preparation for microscopes. US Patent. Application number: 20040180384. [www.freepatentsonline.com/20040180384.html](http://www.freepatentsonline.com/20040180384.html) (a letöltés dátuma: 2012. 03. 12.)
- Shimoni E., Rav-Hon O., Ohad I., Brumfeld V., Reich Z. (2005)** Three dimensional organization of higher-plant chloroplast thylakoid membranes revealed by electron tomography. *Plant Cell* 17:2580–2586.
- Steinbach G., Besson F., Pomozi I., Garab G. (2005)** Differential polarization laser scanning microscopy: biological applications. *Proc SPIE* 5969:566–575.
- Steinbach G., Pomozi I., Zsiros O., Pay A., Horváth G. V., Garab G. (2008)** Imaging fluorescence detected linear dichroism of plant cell walls in laser scanning confocal microscope. *Cytometry A* 73A:202–208
- Steinbach G., Pomozi I., Zsiros O., Menczel L., Garab G. (2009)** Imaging anisotropy using differential polarization laser scanning confocal microscopy. *Acta Histochem.* 111:316–325.
- Steinbach G. (2011a)** Differenciál-polarizációs mikroszkópos technikák fejlesztése és amiloid filamentumok finomszerkezeti vizsgálata differenciál-polarizációs lézerpásztázó mikroszkópia felhasználásával. Egészségügyi mérnök diplomamunka, BMGE-VIK
- Steinbach G., Pomozi I., Jánosa D. P., Makovitzky J., Garab G. (2011b)** Confocal fluorescence detected linear dichroism imaging of isolated human amyloid fibrils. Role of supercoiling. *J Fluoresc* 21:983–989.

## Publikációs lista

*A cikkek összesített impakt faktora: 28,033*

**Steinbach G.**, Besson F., Pomozi I., Garab G. (2005) Differential polarization laser scanning microscopy: biological applications. Proc SPIE 5969:566–575.

**\*Steinbach G.**, Pomozi I., Zsiros O., Páy A., Horváth G. V., Garab G. (2008) Imaging fluorescence detected linear dichroism of plant cell walls in laser scanning confocal microscope. Cytometry A, 73A: 202-208. IF: 3,259 **2. TÉZIS**

Mustárdy L., Buttle K., **Steinbach G.**, Garab G. (2008) The Three-Dimensional Network of the Thylakoid Membranes in Plants: Quasihelical Model of the Granum-Stroma Assembly. Plant Cell 20:2552-2557. IF: 9,296

Mustárdy L., Buttle K., **Steinbach G.**, Garab G. (2008) Three-dimensional architecture of the granum-stroma thylakoid membrane system revealed by electron tomography. In: Allen J. F., Gantt E., Golbeck J. H., Osmond B. eds. Photosynthesis. Energy from the Sun: 14th International Congress on Photosynthesis.: Springer, Heidelberg. pp. 771-774.

Gombos I., **Steinbach G.**, Pomozi I., Balogh A., Vámosi G., Gansen A., László G., Garab G., Matkó J. (2008) Some new faces of membrane microdomains: a complex confocal fluorescence, differential polarization and FCS imaging study on live immune cells. Cytometry A 73A:220-229. IF: 3,259

**\*Steinbach G.**, Pomozi I., Zsiros O., Menczel L., Garab G. (2009) Imaging anisotropy using differential polarization laser scanning confocal microscope. Acta Histochem 111:317-326. IF: 1,234 **1. TÉZIS**

**\*Steinbach G.**, Pomozi I., Jánosa D. P., Makovitzky J., Garab G. (2011) Confocal Fluorescence Detected Linear Dichroism Imaging of Isolated Human Amyloid Fibrils. Role of Supercoiling. J Fluoresc 21:983-989. IF: 1,966\*\* **3. TÉZIS**

**\*Chappaz-Gillot C.**, Marek P. L., Blaive B. J., Canard G., Bürck J., Garab G., Hahn H., Jávorfí T., Kelemen L., Krupke R., Mössinger D., Ormos P., Malla Reddy C., Roussel C., **Steinbach G.**, Szabó M., Ulrich A. S., Vanthuyne N., Vijayaraghavan A., Zupcanova A. and Balaban T. S. (2012) Anisotropic organization and microscopic manipulation of self-assembling synthetic porphyrin microrods that mimic chlorosomes: bacterial light-harvesting systems. J Am Chem Soc 134:944-954. IF: 9,019\*\* **4. TÉZIS**

Bognár K., Czitrovsky A., Illyés Á., Nagy A., Garab Gy., **Steinbach G.** Magas frekvenciás fotoelasztikus fénymodulátor. Benyújtott szabadalom.

\*: a dolgozatban felhasznált közleményeim – *összesített impakt faktoruk: 15,478*

\*\* : várható impakt faktor